Agricultural Sci. J. 50 : 3 (Suppl.) : 211-214 (2019) ว. วิทย. กษ. 50 : 3 (พิเศษ) : 211-214 (2562)

การประเมินกรดไขมันในเมล็ดถั่วเหลืองโดยเทคนิคสเปกโตรสโกปีอินฟราเรดย่านใกล้

Evaluation of Fatty Acid in Soybean Grain by Near Infrared Spectroscopy

นฤเทพ เวชภิบาล[1] ภัทระ ลูกรักษ์[1] และ จารุวรรณ บางแวก[1]
Naruthep Wechpibal[1], Pattara Lookruk[1] and Charuwan Bangwaek[1]

Abstract

Soybean is an essential and dominant source of nutrition for humans. The fatty acid (FA) is an important index of oil quality. The conventional method for FA determination is an expensive technique and spends too much analysis time. Therefore, near infrared spectroscopy (NIRS), quick analysis technique and accuracy which was applied for the determination of five fatty acid (palmitic, stearic, oleic, linoleic and linolenic) in soybean grains. Two hundred samples were loaded into the transport quarter cup and measured the reflectance spectra by NIRSystems 6500 in the wavelength region from 400 nm to 2500 nm. The fatty acids were determined by gas chromatography method. Partial least squares regression was used to develop the calibration equation. It was found that the correlation coefficient (R) of palmitic, stearic, oleic, linoleic and linolenic in soybean grains were 0.92, 0.83, 0.91, 0.85 and 0.84 respectively. The results showed high values of R. Hence, NIRS could be applied for assessment of fatty acid in soybean grains.

Keywords: near infrared spectroscopy (NIRS), soybean grain, fatty acid

บทคัดย่อ

ถั่วเหลืองเป็นแหล่งโภชนาการที่สำคัญสำหรับมนุษย์ อีกทั้งกรดไขมันในถั่วเหลืองเป็นดัชนีสำคัญในการตรวจสอบคุณภาพของน้ำมัน แต่การวิเคราะห์กรดไขมันแบบดั้งเดิม (ทางเคมี) เป็นวิธีที่สิ้นเปลืองค่าใช้จ่าย และใช้เวลาวิเคราะห์นาน ดังนั้นเทคนิคสเปกโตรสโกปีอินฟราเรดย่านใกล้ (NIRS) ซึ่งเป็นเทคนิคที่วิเคราะห์ได้รวดเร็ว และแม่นยำ จึงถูกนำมาใช้ในการวิเคราะห์กรดไขมัน จำนวน 5 ชนิด (ปาล์มิติก สเตียริก โอเลอิก ลิโนเลอิก และลิโนเลนิก) โดยบรรจุเมล็ดถั่วเหลือง จำนวน 200 ตัวอย่าง ลงในเซลล์ใส่ตัวอย่าง (sample cell) ชนิด transport quarter cup นำไปวัดสเปกตรัมด้วยเครื่อง NIRSystems 6500 ที่ช่วงคลื่น 400-2500 นาโนเมตร โดยวัดการสะท้อนกลับของแสงบนสเปกตรัมดั้งเดิม และวิเคราะห์ปริมาณกรดไขมันโดยเทคนิค gas chromatography นำค่าที่ได้มาสร้างสมการเทียบมาตรฐานด้วยเทคนิค PLSR พบว่า ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (R) ของกรดปาล์มิติก กรดสเตียริก กรดโอเลอิก กรดลิโนเลอิก และกรดลิโนเลนิกในเมล็ดถั่วเหลือง เท่ากับ 0.92 0.83 0.91 0.85 และ 0.84 ตามลำดับ จากผลการทดสอบ พบว่าสมการที่ได้ให้ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์สูง ดังนั้นจึงสามารถใช้เทคนิค NIRS ตรวจหาปริมาณองค์ประกอบกรดไขมันในเมล็ดถั่วเหลืองได้

คำสำคัญ: สเปกโตรสโกปีอินฟราเรดย่านใกล้ (NIRS), เมล็ดถั่วเหลือง, กรดไขมัน

คำนำ

ถั่วเหลืองเป็นพืชที่อุดมไปด้วยแหล่งโภชนาการที่สำคัญสำหรับมนุษย์และสัตว์ จากการศึกษาของ Birt *et al.* (2004) พบว่าการบริโภคถั่วเหลืองจะช่วยลดอัตราการเป็นมะเร็ง ไขมันในเลือด โรคกระดูกพรุน และโรคหัวใจ น้ำมันถั่วเหลืองประกอบด้วยกรดไขมันที่สำคัญ 5 ชนิด ได้แก่ กรดปาล์มิติก (palmitic) กรดสเตียริก (stearic) กรดโอเลอิก (oleic) กรดลิโนเลอิก (linoleic) และกรดลิโนเลนิก (linolenic) หากปริมาณกรดลิโนเลนิกลดลง และกรดโอเลอิกเพิ่มขึ้นจะช่วยปรับปรุงความเสถียรของน้ำมันถั่วเหลืองในระหว่างการเก็บรักษา และการแปรรูป ซึ่งลักษณะดังกล่าวจะช่วยลดกระบวนการเติมไฮโดรเจน (hydrogenation) ที่จะนำไปสู่การเพิ่มไขมันทรานส์ ซึ่งเป็นไขมันที่ไม่เป็นประโยชน์ต่อสุขภาพ โดยพบว่า กรดไขมันทรานส์ให้ผลร้ายเช่นเดียวกับกรดไขมันอิ่มตัว เนื่องจากกรดไขมันทรานส์ไปส่งเสริมการทำงานของเอนไซม์ cholesterol acyltranferase ซึ่งเป็นเอนไซม์สำคัญในกระบวนการเมตาบอลิซึมของคอเลสเตอรอล ทำให้ระดับคอเลสเตอรอลรวม (total cholesterol) และ LDL-cholesterol เพิ่มขึ้น ซึ่งเพิ่มความเสี่ยงต่อการเป็นโรคหลอดเลือดหัวใจ ในทางตรงข้ามหากถั่วเหลืองสายพันธุ์ใดที่มี

[1] กองวิจัยและพัฒนาวิทยาการหลังการเก็บเกี่ยวและแปรรูปผลิตผลเกษตร กรมวิชาการเกษตร กรุงเทพฯ 10900
[1] Postharvest and Processing Research and Development Division, Department of Agriculture, Bangkok 10900

ปริมาณกรดไขมันอิสระชนิดอิ่มตัวมาก เช่น กรดปาล์มิติก และกรดสเตียริก จะเป็นประโยชน์ต่อการผลิตเป็นเนยเทียม (margarine) และเนยขาว (shortening) องค์ประกอบของกรดไขมันจึงเป็นดัชนีสำคัญในการตรวจสอบคุณภาพของน้ำมัน วิธีการวิเคราะห์กรดไขมันแบบดั้งเดิม (ภายในห้องปฏิบัติการ) เป็นวิธีที่มีค่าใช้จ่ายที่สูง ยุ่งยาก ซับซ้อน สิ้นเปลืองแรงงาน และใช้เวลานาน ตั้งแต่ขั้นตอนการบด สกัดน้ำมัน การทำปฏิกิริยาทางเคมี และการวิเคราะห์ด้วยเครื่อง GC (gas chromatography) วิธีวิเคราะห์ดังกล่าวจำเป็นต้องทำลายตัวอย่างเมล็ดถั่วเหลือง ดังนั้น การพัฒนาวิธีตรวจสอบที่คุ้มค่า และรวดเร็วจึงเป็นสิ่งจำเป็น เทคนิคสเปกโตรสโกปีอินฟราเรดย่านใกล้ (near infrared spectroscopy, NIRS) เป็นเทคนิคที่มีประโยชน์ รวดเร็ว ไม่ทำลายตัวอย่าง คุ้มค่า และน่าเชื่อถือ จึงเป็นวิธีหนึ่งที่น่าสนใจ เนื่องจากเป็นเครื่องมือที่ใช้หลักการสร้างสมการเพื่อการประเมินระหว่างค่า spectra ที่ได้จากการให้แสง near infrared ผ่านวัตถุที่ต้องการวิเคราะห์ และค่าที่ได้จากการวิเคราะห์ในห้องปฏิบัติการ นำสมการที่ได้มาทำนายค่าของวัตถุที่ต้องการวิเคราะห์ต่อไป NIRS สามารถวิเคราะห์กลุ่มประชากรที่ใหญ่ในปริมาณตัวอย่างที่น้อยในรูปแบบของเมล็ด ซึ่งช่วยลดความคลาดเคลื่อนการวิเคราะห์ได้ดี เทคนิค NIRS ถูกนำมาใช้ในการตรวจวัดคุณภาพน้ำมันถั่วเหลืองหลายๆ ด้าน เช่น การตรวจวัดคุณภาพน้ำมันที่ใช้ทอดอาหาร ค่า peroxide น้ำมันถั่วเหลืองที่เกิดการออกซิไดซ์ (Yildiz *et al.,* 2003) และปริมาณการเป็น cis และ trans ของน้ำมันถั่วเหลืองที่เกิดการเติมไฮโดรเจน (hydrogenation) โดย Sato *et al*. (2002) วิเคราะห์ปริมาณกรดไขมันในแป้งถั่วเหลืองด้วย NIRS ที่ค่าการดูดกลืนแสงที่ 1708 nm พบว่า ค่าสหสัมพันธ์ (correlation) ของกรดลิโนเลอิก และโอเลอิก เป็น 0.85 และ 0.88 ตามลำดับ ดังนั้น วิธี NIRS จึงเป็นเครื่องมือที่ใช้เวลาในการวิเคราะห์ไม่ทำลายตัวอย่าง สะดวก รวดเร็ว แม่นยำ มีประสิทธิภาพ และมีค่าใช้จ่ายต่ำ เหมาะสมอย่างยิ่งในการนำมาใช้ประเมินปริมาณกรดไขมันในเมล็ดถั่วเหลืองได้ถูกต้อง และทดแทนการวิเคราะห์แบบดั้งเดิมทางเคมี

อุปกรณ์และวิธีการ

สุ่มเลือกตัวอย่างถั่วเหลืองจากแหล่งต่าง ๆ ได้แก่ ศูนย์วิจัยพืชไร่เชียงใหม่ และแหล่งจำหน่ายถั่วเหลือง จำนวน 200 ตัวอย่าง มาใส่ในเซลล์บรรจุตัวอย่างชนิด transport quarter cup นำไปวัดสเปกตรัมด้วยเครื่อง NIRSystems 6500 ด้วยชุดอุปกรณ์ transportation module ในช่วงความยาวคลื่น 400-2500 นาโนเมตร โดยวัดการสะท้อนกลับของแสง (reflectance) ซึ่งได้ข้อมูลสเปกตรัมของแต่ละตัวอย่าง และนำตัวอย่างไปวิเคราะห์ปริมาณกรดไขมันในถั่วเหลือง ได้แก่ กรดปาล์มิติก (palmitic) กรดสเตียริก (stearic) กรดโอเลอิก (oleic) กรดลิโนเลอิก (linoleic) และกรดลิโนเลนิก (linolenic) ด้วยเทคนิค gas chromatography นำค่าที่ได้มาสร้างสมการเทียบมาตรฐานด้วยเทคนิค partial least squares regression (PLSR) โดยใช้โปรแกรม The Unscrambler® version 9.7 (Camo, Oslo, Norway)

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

ตัวอย่างเมล็ดถั่วเหลืองที่นำมาใช้ในการในการทดลองนี้ มีปริมาณกรดปาล์มิติก กรดสเตียริก กรดโอเลอิก กรดลิโนเลอิก และกรดลิโนเลนิก เท่ากับ 11.20, 3.40, 22.75, 54.95 และ 8.59% ตามลำดับ (Table 1) และพบว่า เมล็ดถั่วเหลืองสามารถดูดกลืนได้ดีที่ความยาวคลื่น 1208, 1496, 1724 และ 2338 nm ซึ่งเป็นค่าการดูดกลืนแสงของโมเลกุลกรดไขมัน (Williams and Norris, 2001) (Figure 1) การสร้างสมการประเมินปริมาณกรดไขมันด้วยเทคนิค PLSR ทำการทดสอบสมการแบบ full cross-validation โดยการใช้สเปกตรัมดั้งเดิม (original spectrum) ที่ความยาวคลื่นระหว่าง 400-2500 นาโนเมตร พบว่า ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (R) ของกรดปาล์มิติก กรดสเตียริก กรดโอเลอิก กรดลิโนเลอิก และกรดลิโนเลนิก เท่ากับ 0.92, 0.83 0.91 0.85 และ 0.84% ตามลำดับ ค่าความคลาดเคลื่อนมาตรฐานในการทำนายปริมาณกรดไขมันในกลุ่มสร้างสมการ (SEC) ของกรดปาล์มิติก กรดสเตียริก กรดโอเลอิก กรดลิโนเลอิก และกรดลิโนเลนิก เท่ากับ 0.40, 0.19, 1.30, 1.10 และ 0.74% ตามลำดับ ค่าความคลาดเคลื่อนมาตรฐานในการทำนายปริมาณกรดไขมันในกลุ่มทดสอบสมการ (SEP) เท่ากับ 0.47, 0.23, 1.59, 1.30 และ 0.81% ตามลำดับ ค่าเฉลี่ยของผลต่างระหว่างค่าที่ได้จากวิธีอ้างอิงกับค่าที่ได้จาก NIRS (averages of difference between actual and NIR values, Bias) ของกรดปาล์มิติก กรดสเตียริก กรดโอเลอิก กรดลิโนเลอิก และกรดลิโน-เลนิก เท่ากับ 0.00, 0.00, 0.001, 0.00 และ 0.01% ตามลำดับ latent variables (F) ของกรดปาล์มิติก กรดสเตียริก กรดโอเล-อิก กรดลิโนเลอิก และกรดลิโนเลนิก เท่ากับ 14, 15, 19, 19 และ 12 ปัจจัย ตามลำดับ (Table 2) เมื่อพิจารณาจากค่าสัมประ-สิทธ์สหสัมพันธ์ (R) ซึ่งจะแสดงให้เห็นถึงความสัมพันธ์ของข้อมูล 2 ชุดที่มีต่อกัน พบว่าค่าอ้างอิงที่วัดโดยเทคนิค GC กับค่าที่ได้จากเทคนิค NIRS มีความสัมพันธ์ที่ดี ให้ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์สูง ค่าความคลาดเคลื่อนมาตรฐานในกลุ่ม SEC และกลุ่ม SEP ต่ำ (Figure 2) ซึ่งแสดงให้เห็นถึงความสัมพันธ์ที่ดีระหว่างค่าอ้างอิง และค่าที่ทำนายได้ ทำให้สมการ

ที่ได้มีความแม่นยำ เหมาะสมที่จะนำไปใช้ในการประเมินกรดปาล์มิติก กรดสเตียริก กรดโอเลอิก กรดลิโนเลอิก และกรดลิโนเลนิกในเมล็ดถั่วเหลืองด้วยเทคนิค NIRS

Table 1 The characteristics of soybean samples used to develop the calibration model of palmitic, stearic, oleic, linoleic and linolenic

Items	Palmitic	Stearic	Oleic	Linoleic	Linolenic
Min-Max	9.70-13.39	2.42-4.17	16.49-33.20	48.39-58.48	5.18-12.23
Mean	11.20	3.40	22.75	54.95	8.59
SD	1.03	0.34	3.21	2.08	1.35
Unit	%	%	%	%	%

Min: minimum value, Max: maximum value, SD: Standard deviation of average

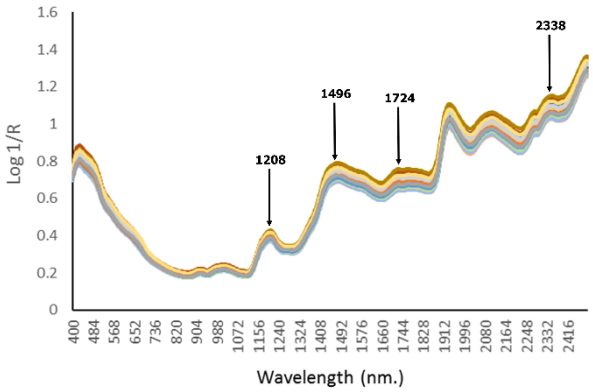

Figure 1 The original NIR spectrum of soybean grain in wavelength region from 400 nm to 2500 nm

Table 2 Results of PLSR calibration of palmitic, stearic, oleic, linoleic and linolenic in soybean grain

Fatty Acid	Wavelength (nm)	R	SEC (%)	SEP (%)	Bias (%)	F
Palmitic	400-2500	0.92	0.40	0.47	0.00	14
Stearic	400-2500	0.83	0.19	0.23	0.00	15
Oleic	400-2500	0.91	1.30	1.59	0.01	19
Linoleic	400-2500	0.85	1.10	1.30	0.00	19
Linolenic	400-2500	0.84	0.74	0.81	0.01	12

R: Coefficient of correlation, SEC: Standard error of calibration, SEP: Stand error of prediction; Bias: The average difference between actual value and NIRS value, F: The number of factors used in the calibration equation

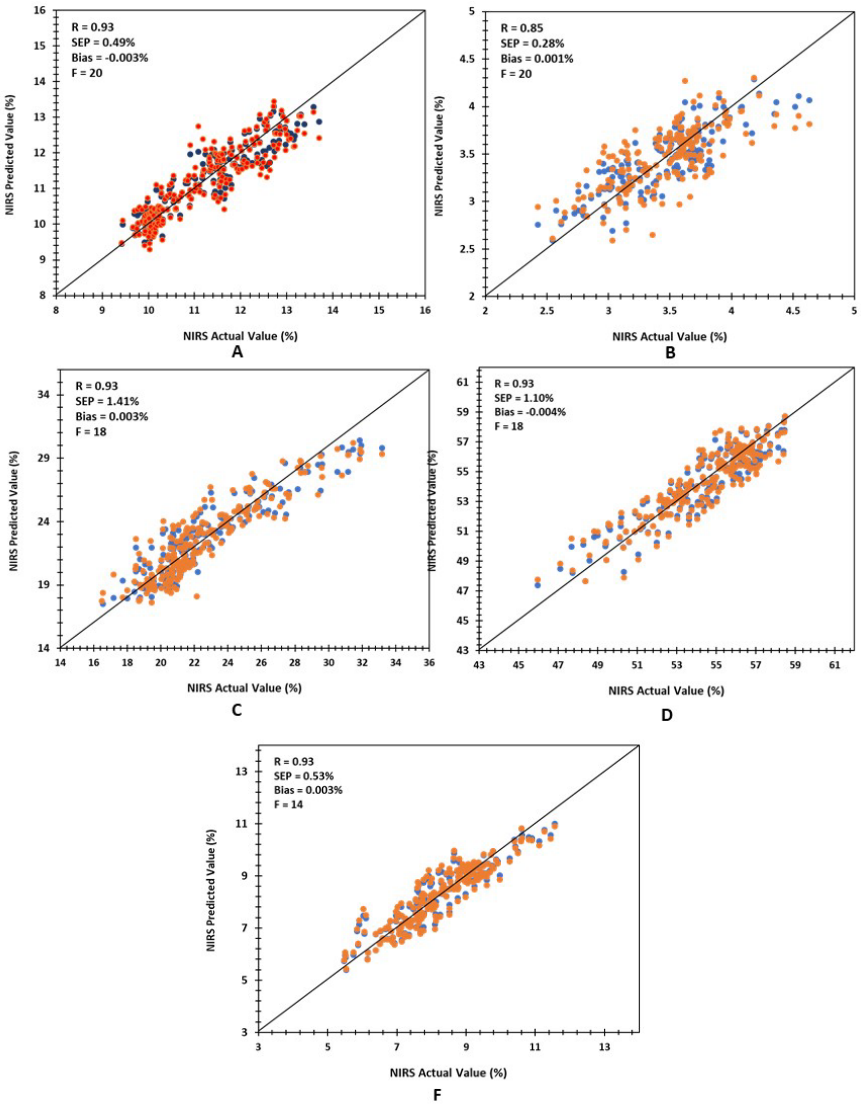

Figure 2 The relationship between NIRS predicted values and chemical analysis values of palmitic acid (A), stearic acid (B), oleic acid (C), linoleic acid (D) and linolenic acid (F)

สรุป

เทคนิคสเปกโตรสโกปีอินฟราเรดย่านใกล้ (NIRS) เป็นเทคนิคที่สามารถตรวจประเมินปริมาณกรดไขมันในเมล็ดถั่วเหลืองได้ โดยใช้ข้อมูลสเปกตรัมดั้งเดิมในช่วงความยาวคลื่น 400-2500 นาโนเมตร

เอกสารอ้างอิง

Birt, D.F., S. Hendrick and D.L. Alekel. 2004. Soybean and the prevention of chronic human disease. pp. 1047-1117 In: Boerma, H.R. and J.E. Specht. (Eds.) Soybeans: Improvement, Production and Uses. ASA-CSSA-SSSA, Madison, WI, USA.

Sato, T., M. Takahashi and R. Matsunaga. 2002. Use of NIR spectroscopy for estimation of FA composition of soy flour. J. Am. Oil Chem. Soc 79: 535-537.

Yildiz, G., R.L. Wehling and S.L. Cuppett. 2003. Comparison of four analytical methods for the determination of peroxide value in oxidized soybean oils. J. Am. Oil Chem. Soc 80: 103-107.

Williams, P. and K. Norris. 2001. Near Infrared Technology in the Agricultural and Food Industries. Inc.: St Paul, Minesota. 312 p.